



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS
CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS



Aplicación de un recubrimiento comestible a base de quitosano sobre la calidad sensorial y microbiológica de moras de Castilla (*Rubus glaucus* Benth)

Trabajo de Titulación, modalidad proyecto de investigación, previa la obtención del Título de Ingeniera en Alimentos, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

El presente estudio es parte del proyecto: “**Desarrollo de nuevas tecnologías de acondicionamiento postcosecha para berries**” aprobado por el Honorable Consejo Universitario y financiado por el Centro de Investigación de la Universidad Técnica de Ambato. Resolución 1302-CP-U-P-2015. Coordinado por la Ph.D. Sandra Horvitz.

Autora: Evelyn Maricela Freire Martínez

Tutor: Ph.D. Sandra Horvitz Szoichet

AMBATO – ECUADOR

SEPTIEMBRE - 2017

APROBACIÓN DEL TUTOR

Ph. D. Sandra Susana Horvitz Szoichet

CERTIFICA:

Que el presente trabajo de titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto autorizo la presentación de este Trabajo de Titulación modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad.

Ambato, 18 de julio del 2017



Ph.D. Sandra Horvitz Szoichet

AAA483083

TUTORA

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Evelyn Maricela Freire Martínez, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniera en Alimentos, son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas.



.....
Evelyn Maricela Freire Martínez


050344293-1

AUTORA


APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DE TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Trabajo de Titulación “**APLICACIÓN DE UN RECUBRIMIENTO COMESTIBLE A BASE DE QUITOSANO SOBRE LA CALIDAD SENSORIAL Y MICROBIOLÓGICA DE MORAS DE CASTILLA (*Rubus glaucus* Benth)**”, modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato.


Para constancia firman:



Presidente del Tribunal



Ph.D. Ignacio Ángel Angós Iturgaiz
C.I. 175697822-5



Ph.D. Orestes Darío López Hernández
C.I. 175478486-4

Ambato, 12 de septiembre del 2017

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Proyecto de Investigación o parte de él, un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi Proyecto, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este Proyecto dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autora.



.....
Evelyn Maricela Freire Martínez

C.I. 050344293-1

AUTORA

DEDICATORIA

El presente trabajo está dedicado a mis padres Jaime y Olga por darme la vida, el amor sincero, el cariño, la confianza y el apoyo brindado. Por los momentos que siempre supieron de una u otra forma alentarme para no caer y seguir adelante culminando uno de mis objetivos.

A mis hermanas quienes me brindaron todo su apoyo, por la paciencia y por los consejos que siempre supieron motivarme.

A mis abuelitos que siempre estarán en mi corazón y que desde algún lugar siempre me acompañan.

A mi hijo Erik que es mi fortaleza, la razón de vivir.

A mi esposo José Luis que nunca dejó de creer en mí.

A toda mi familia por el apoyo brindado y consejos para continuar cumpliendo mi sueño.

Con amor

Evelyn Maricela

AGRADECIMIENTOS

A Dios y la Virgen de Guadalupe, quienes me han dado fortaleza y sabiduría para continuar y llegar a culminar mi objetivo.

A la Universidad Técnica de Ambato en especial a la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos que me han permitido realizarme como profesional.

A mis maestros que a lo largo de mi carrera, me han impartido sus conocimientos, experiencias y sabios consejos que ayudaron en mi formación académica.

A la Doctora Sandra Horvitz (tutora), por la confianza depositada en mí, por la paciencia y el apoyo brindado.

A mis amigas por el apoyo incondicional, por las alegrías, tristezas y momentos que siempre llevare en mi corazón.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I	3
EL PROBLEMA	3
1.1. TEMA DE INVESTIGACIÓN	3
1.2. JUSTIFICACIÓN.....	3
1.3. OBJETIVOS.....	4
1.3.1. Objetivo General.....	4
1.3.2. Objetivos Específicos	4
CAPÍTULO II	5
MARCO TEÓRICO	5
2.1 ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS.....	5
2.2 HIPÓTESIS	7
2.3 SEÑALAMIENTO DE VARIABLES DE LA HIPÓTESIS	8
2.3.1 VARIABLE INDEPENDIENTE.....	8
2.3.2 VARIABLE DEPENDIENTE.....	8
CAPITULO III	9
MATERIALES Y MÉTODOS	9
3.1. MATERIA PRIMA	9
3.2. RECUBRIMIENTO DE QUITOSANO	9
3.2.1. Preparación del recubrimiento comestible.....	9
3.2.2. Aplicación.....	9
3.3. ENVASADO Y ALMACENAMIENTO	10
3.4. REACTIVOS.....	10
3.5. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS	10
3.5.1. Pérdida de peso	10

3.6. DETERMINACIÓN DE LA TASA RESPIRATORIA	11
3.7. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS	11
3.8. ANÁLISIS SENSORIAL	12
3.9. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	12
3.10. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS	12
CAPÍTULO IV	13
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	13
4.1. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS	13
4.1.1 Pérdida de peso	13
4.2 ANÁLISIS DE LA TASA RESPIRATORIA	14
4.3. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS	17
4.5. VERIFICACIÓN DE LA HIPÓTESIS	22
CAPÍTULO V.....	23
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	23
5.1. CONCLUSIONES.....	23
5.2 RECOMENDACIONES	23
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	25
ANEXOS	30
ANEXO A.....	30
ANEXO B	32
ANEXO B-1	33
ANEXO B-2	35
ANEXO C.....	37

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Recuentos microbiológicos de mora de Castilla con y sin recubrimiento comestible almacenada a 6 ± 1 °C.....	17
---	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Carta de color de la mora de Castilla	9
Figura 2. Pérdida de peso (%) de moras de Castilla cosechadas en estado de madurez 4 con y sin recubrimiento almacenadas a 6 ± 1 °C	13
Figura 3. Tasa respiratoria de la mora de Castilla con y sin recubrimiento de quitosano 1% almacenadas a 6 ± 1 °C.....	15
Figura 4. Color (a), aroma (b) y sabor (c) de moras de Castilla con y sin recubrimiento conservadas a 6 ± 1 °C	20
Figura 5. Color de las moras de Castilla en el día 6, muestra control (a) y muestra con recubrimiento (b) almacenadas a 6 ± 1 °C	21
Figura 6. Recepción y clasificación de la mora de Castilla (estado de madurez 4)...	31
Figura 7. Aplicación de recubrimiento de quitosano y secado de la fruta	31
Figura 8. Envasado y almacenamiento de las muestras a 6 ± 1 °C	31
Figura 9. Presencia de crecimiento microbiano en la muestra control	36
Figura 10. Inoculación de las muestras	38
Figura 11. Evaluación sensorial de las moras de Castilla con y sin recubrimiento. .	38

RESUMEN

La mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth) es una de las frutas más perecederas, debido a su alta tasa respiratoria y la carencia de cáscara que protege la calidad de la fruta. La presente investigación tuvo como objeto estudiar el efecto de la aplicación de un recubrimiento comestible a base de quitosano sobre la pérdida de peso, la tasa respiratoria, la calidad sensorial y microbiológica de la moras de Castilla, con la finalidad de conservar los atributos de calidad y la aceptabilidad de la fruta.

Las moras a estudio fueron almacenadas a 6 ± 1 °C y los análisis se realizaron los días 1, 3, 6 y 8. El recubrimiento de quitosano disminuyó los recuentos de bacterias aerobias mesófilas en 0,99 log ufc/g, mohos y levaduras en 2,01 log ufc/g. Además, el recubrimiento redujo el porcentaje de pérdida de peso, la tasa respiratoria de la mora y conservó la textura de la fruta.

El quitosano como recubrimiento comestible permitió conservar las características organolépticas de la fruta, siendo aceptable por los consumidores durante la evaluación sensorial. Este recubrimiento puede ser utilizado para conservar la calidad de la fruta ya que posee actividad antibacteriana y antifúngica lo que permitió incrementar la vida útil de la mora de Castilla hasta 8 días.

Palabras claves: mora de Castilla, recubrimientos comestibles, actividad antimicrobiana, calidad sensorial y microbiológica.

ABSTRACT

The Blackberry (*Rubus glaucus* Benth) is one of the most Perishable fruit, due to its high respiratory rate and the lack of shell that protects the fruit's quality. The present research was like objective to study the effect of the application of an edible coating based on chitosan on weight loss, respiratory rate, the sensory and microbiological quality of blackberry with the purpose of preserving the attributes of quality and the acceptability of the fruit.

The blackberries under study were stored to 6 ± 1 °C and the analyses were performed on days 1, 3, 6 and 8. The recovery of the chitosan decreased the counts of mesophilic aerobic bacteria in 0,99 log ufc/g, molds and yeasts in 2,01 log ufc/g. Besides the recovering reduced the percentage of weight loss, the respiratory rate of blackberry and preserved the texture of the fruit.

The chitosan as edible coating allowed preserving the organoleptic characteristics of the fruit, being acceptable by the consumers during the sensorial evaluation.

This recovering can be used to preserve the fruit's quality as it has antibacterial and antifungal activity which allowed increasing the useful life of the blackberry up to 8 days.

Key Words: blackberry, edible coating, antimicrobial activity, quality sensory and microbiological.

INTRODUCCIÓN

Se considera que existen más de 300 especies de mora de gran importancia en todo el mundo y en Ecuador la más cultivada es la mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth). La mora crece en climas fríos y templados de la Cordillera de los Andes del Ecuador y Colombia extendiéndose hasta Guatemala, Panamá y México (**Martínez et al., 2007**).

En Ecuador, la mora de Castilla se cultiva en zonas altas entre 2500 y 3000 m.s.n.m. con temperaturas entre 12 y 18 °C, principalmente en las provincias de Tungurahua, Cotopaxi, Carchi, Imbabura, Pichincha y Bolívar. Además, la mora de Castilla presenta una gran demanda de consumo que alcanza los 2 kg/familia/semana (**Martínez et al., 2007; Rueda, Alulema, Romero, Rueda, & Jaffer, 2016**).

La mora es una fruta de alto interés comercial para los agricultores, por la capacidad de producir ingresos y ser fuente de empleo rural (**Dayron, Fischer, & Flórez, 2006; Farinango, 2010**). Sin embargo, al ser frutas no climatéricas deben ser cosechadas una vez que alcanzan su madurez comercial (**Chanaguano, 2016**). Además, son frutas muy perecederas, debido a su elevada tasa respiratoria y a la carencia de cáscara protectora, por lo que la cosecha y el manejo postcosecha deben ser cuidadosos y eficientes (**Moreno-Guerrero, Andrade-Cuvi, Terán-Guerrero, Túqueres-Ushca, & Concellón, 2016; Ramirez, 2012**).

El desarrollo de nuevas tecnologías como los recubrimientos comestibles aplicados a productos frescos o mínimamente procesados, ha generado efectos positivos para prolongar la vida de anaquel de los alimentos (**Quintero, Falguera, & Muñoz, 2010**). Estos recubrimientos forman una atmósfera modificada pasiva que conserva la calidad sensorial, el color y la firmeza de la fruta. Además, estos recubrimientos pueden cumplir la función de incorporar aditivos como antioxidantes, antimicrobianos y mejoradores de textura (**Luna, 2012; Quintero et al., 2010**).

Uno de los polímeros empleados para formar películas semipermeables y conservar la calidad de la fruta es el quitosano. El quitosano es una de las alternativas importantes

para controlar pudrición y contaminación microbiana previniendo enfermedades postcosecha de los productos hortofrutícolas (**Hernández-Lauzardo, Hernández-Martínez, Velázquez-del Valle, Guerra-Sánchez, & Melo-Giorgana, 2007**).

El objetivo de la presente investigación fue estudiar los efectos de la aplicación de un recubrimiento comestible a base de quitosano sobre la calidad sensorial y microbiológica de moras de Castilla (*Rubus glaucus* Benth), con la finalidad de conservar las características organolépticas de la fruta y evitar el crecimiento microbiano que afecta la calidad del producto.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

1.1. TEMA DE INVESTIGACIÓN

Aplicación de un recubrimiento comestible a base de quitosano sobre la calidad sensorial y microbiológica de moras de Castilla (*Rubus glaucus* Benth).

1.2. JUSTIFICACIÓN

La mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth) es una planta de origen silvestre, apreciada por su sabor acidulado, su jugosidad y su atractivo color rojo oscuro a púrpura (**Martínez et al., 2007**). Además, es rica en compuestos nutricionales como vitamina C y compuestos antioxidantes (**Moreno-Medina, Casierra-Posada, & Blanke, 2016; Villacrez, Carriazo, & Osorio, 2013**).

En Ecuador, la mora de Castilla se encuentra distribuida a lo largo del callejón interandino (**Martínez et al., 2007**), siendo la principal provincia productora Tungurahua. En particular, en el cantón Ambato la superficie plantada en el año 2013 fue de 305 ha, aunque las pérdidas postcosecha ascendieron a 373 Tm, representando un 10 % de la producción (**INEC-MAG-SICA, 2013**).

Las principales pérdidas postcosecha que presentan las frutas se deben a deterioros microbiológicos y fisiológicos, como consecuencia del inadecuado proceso de recolección y empaque, lo que conlleva un corto periodo de vida del producto. Para evitar o minimizar estas pérdidas se han implementado diferentes tecnologías, como el almacenamiento a bajas temperaturas, la conservación en atmósferas controladas y la aplicación de recubrimientos comestibles (**Fernandez-Valdés et al., 2015**).

Aunque los recubrimientos comestibles de origen biológico no pretenden reemplazar a los envases convencionales, su uso es apropiado para mantener la calidad de los alimentos. Un polímero bioactivo empleado en la producción de recubrimientos comestibles es el quitosano, que es biodegradable, biofuncional y biocompatible, con un amplio espectro antimicrobiano y antifúngico. Además, no es tóxico para los seres humanos ni para el ambiente (**Aider, 2010**).

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. Objetivo General

- Estudiar los efectos de la aplicación de un recubrimiento comestible a base de quitosano sobre la calidad sensorial y microbiológica de moras de Castilla (*Rubus glaucus* Benth)

1.3.2. Objetivos Específicos

- Determinar la actividad respiratoria en moras de Castilla con y sin recubrimiento
- Comparar la calidad sensorial de moras de Castilla con y sin recubrimiento
- Evaluar la actividad antimicrobiana del recubrimiento comestible a base de quitosano en moras de Castilla

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

La mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth) es una planta perenne, arbustiva perteneciente a la familia de las rosáceas. El fruto está formado por pequeñas drupas adheridas a un receptáculo floral, variando su color de rojo a negro brillante (INEN, 2010).

Esta fruta posee bajo valor calórico y se caracteriza por ser una fuente de pigmentos naturales, antioxidantes polifenólicos, antocianinas y carotenoides (Guevara-Zambrano, 2016). Además, los antioxidantes polifenólicos por ser compuestos bioactivos, cumplen la función de proteger al cuerpo humano de radicales libres y moléculas inestables que causan daño celular y posteriormente enfermedades degenerativas (Guevara-Zambrano, 2016; Huang, Zhang, Liu, & Li, 2012).

La fruta puede presentar pérdidas de calidad y pudrición por la presencia de bacterias como *Erwinia* y *Pseudomonas* y mohos como *Penicillium*, *Botrytis*, *Aspergillus* y *Fusarium* (Ramírez, Aristizabal, & Restrepo, 2013; Rojas-Llanes, Martínez, & Stashenko, 2014), problemas que han sido controlados durante años mediante la aplicación de agroquímicos. Sin embargo, el uso continuo de estos productos puede generar problemas de contaminación ambiental, complicaciones en la salud y resistencia en los microorganismos que se pretende controlar (Hernández-Lauzardo et al., 2007).

Para evitar pérdidas de calidad en los productos frescos, se han estudiado nuevas alternativas (Iza, Rojas-Lema, & Arguello, 2016). Uno de los métodos prometedores es el uso de películas o recubrimientos comestibles, que preservan la calidad del alimento, al evitar la pérdida o absorción de agua, la pérdida de aromas y solutos y la penetración de oxígeno al alimento (Aider, 2010).

Los recubrimientos comestibles son matrices continuas y delgadas elaboradas a partir de polisacáridos, lípidos y proteínas o mezclas de éstos, que son aplicados sobre la superficie del producto (**Quintero et al., 2010; Ramírez et al., 2013**). Además, deben tener propiedades mecánicas que garanticen adhesividad y no afecten al color y olor del alimento (**Figueroa, Salcedo, Aguas, Olivero, & Narváez, 2011**). Uno de los polímeros bioactivos empleados en la producción de recubrimientos comestibles es el quitosano (**Aider, 2010**), que se obtiene de la desacetilación de la quitina, que está presente en hongos, algas, insectos, calamares y en los exoesqueletos de crustáceos como cangrejos y langostas (**Escobar, Castro, & Vergara, 2013**).

La efectividad antimicrobiana del quitosano dependerá del grado de desacetilación y de su peso molecular. A mayor grado de desacetilación, aumenta la densidad de cargas positivas en el quitosano que interactúan con las cargas negativas presentes en la parte externa de la membrana plasmática de los microorganismos, provocando desestabilización de la membrana y lisis celular. En hongos, posterior a la lisis celular, el quitosano puede ingresar y desnaturalizar las enzimas o inhibir el ADN y la síntesis del ARNm, evitando la formación de esporas (**Ayala-Valencia, 2015; Valenzuela & Arias, 2012**).

Por otro lado, a menor peso molecular los oligómeros del quitosano ingresarán con mayor facilidad en las células de los microorganismos, impidiendo el crecimiento de éstos ya que inhiben la acción de varias enzimas e interfieren en la síntesis de proteínas (**Ayala-Valencia, 2015; Valenzuela & Arias, 2012**).

El quitosano presenta características biológicas, incluyendo biodegradabilidad y no toxicidad, así como actividad antimicrobiana contra bacterias, hongos filamentosos y levaduras (**Kong, Chen, Xing, & Park, 2010**). Por sus características y amplio espectro antimicrobiano, este polímero permite su aplicación en diferentes industrias, tales como las industrias alimenticia, farmacéutica y cosmética (**Ayala-Valencia, 2015**).

En estudios realizados con recubrimientos de quitosano (1,0 y 2,0 % p/v) en fresas y frambuesas almacenadas a 4 y 13 °C, **Zhang & Quantick (1998)** reportaron una

reducción significativa en la pudrición causada por *Botrytis cinerea* y *Rhizopus* sp. en las frutas almacenadas a 13 °C. Asimismo, estos autores reportaron efectos beneficiosos del quitosano sobre la firmeza, la acidez titulable, el contenido de vitamina C y el contenido de antocianinas de las fresas y frambuesas almacenadas a 4 °C. Del mismo modo, en otros estudios **El Ghaouth, Arul, Ponnampalam, & Boulet (1991)** reportaron que el recubrimiento de quitosano disminuyó la tasa respiratoria de bayas a 9,8 y 7,5 ml/kg h de CO₂ para el 1,0 y 2,0 % p/v de quitosano, respectivamente teniendo efectos positivos a mayores concentraciones.

En el estudio realizado por **Han, Lederer, McDaniel, & Zhao (2005)** con recubrimientos de quitosano (1,0; 1,5 y 2,0 %) en fresas almacenadas a 2 °C con 88 ± 1 % de HR por una semana, se obtuvo un aumento significativo en la aceptabilidad del aspecto de las fresas. Además, estos autores reportaron que el recubrimiento de quitosano no alteró la aceptabilidad del sabor, el dulzor y la firmeza de las fresas, de acuerdo a la evaluación de los catadores. Finalmente, cuando el quitosano fue aplicado a una concentración del 1 %, los panelistas entrenados mostraron descripciones sensoriales similares a las de bayas sin recubrimientos.

Asimismo, **Romanazzi, Nigro, Ippolito, Di Venere, & Salerno (2002)** reportaron actividad antifúngica significativa del quitosano (0,1; 0,5 y 1,0 %) contra *B. cinerea* cuando se aplicó como recubrimiento en frutas de uva (*Vitis vinifera* L.) y fresa.

2.2 HIPÓTESIS

Ho: El recubrimiento comestible a base de quitosano no influye sobre la calidad sensorial y microbiológica de la mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth).

Ha: El recubrimiento comestible a base de quitosano influye sobre la calidad sensorial y microbiológica de la mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth).

2.3 SEÑALAMIENTO DE VARIABLES DE LA HIPÓTESIS

2.3.1 VARIABLE INDEPENDIENTE

- Recubrimiento comestible a base de quitosano

2.3.2 VARIABLE DEPENDIENTE

- Calidad sensorial y microbiológica de la mora de Castilla
- Tasa respiratoria y pérdida de peso en moras de Castilla

CAPITULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. MATERIA PRIMA

Se recolectaron 6 kg de mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth) en estado de madurez 4, en función del color externo de la fruta y utilizando la carta de color de la norma INEN 2427:2010 (INEN, 2010) (Figura 1). La fruta se cosechó en el sector Huachi Grande, cantón Ambato, provincia de Tungurahua, Ecuador. Se retiraron los pedúnculos y se descartó la fruta inmadura y deteriorada.

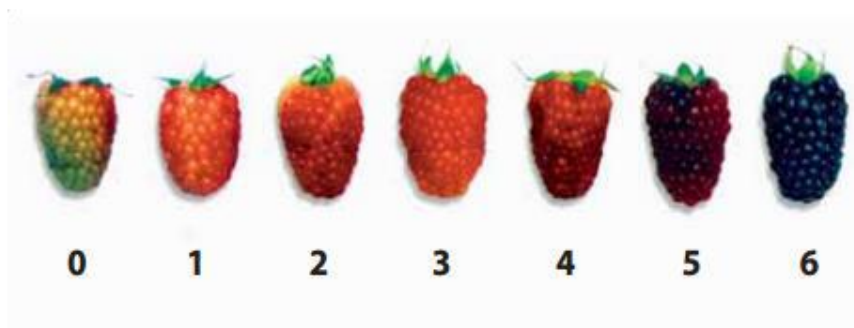


Figura 1. Carta de color de la mora de Castilla (INEN, 2010).

3.2. RECUBRIMIENTO DE QUITOSANO

3.2.1. Preparación del recubrimiento comestible

Se preparó 1 litro de solución de quitosano 1 % p/v en ácido láctico 1 % p/v. Se colocó a 40 °C/450 rpm en una placa de calentamiento (Fischer Scientific Isotherm, Estados Unidos) durante 24 horas y una vez solubilizado se incorporaron 10 ml de glicerol.

3.2.2. Aplicación

El recubrimiento se aplicó en 3 kg de mora mediante el método de inmersión y se dejó reposar por 5 min, luego se colocó en mallas para eliminar el exceso de quitosano y finalmente se colocó en un secador (Gander MTN, Estados Unidos) regulado a 21 ± 1 °C durante 2 horas.

3.3. ENVASADO Y ALMACENAMIENTO

Para el envasado de las moras de Castilla se utilizaron envases de tereftalato de polietileno (PET), en los que se colocaron 200 ± 10 g de fruta y se almacenaron a 6 ± 1 °C.

Para la realización del proyecto, se consideró el día de aplicación del tratamiento como día 0 y los análisis se realizaron los días 1, 3, 6 y 8, realizándose el primer análisis después de 24 horas de almacenamiento.

3.4. REACTIVOS

Agua de peptona tamponada

Medios de cultivo:

Agar PCA

Agar Saboraud dextrosa con cloranfenicol

Quitosano

Ácido láctico

Glicerol

3.5. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS

3.5.1. Pérdida de peso

Se registró diariamente el peso de tres envases de moras con y sin recubrimiento hasta la observación de síntomas de deterioro por crecimiento microbiano. La pérdida de peso se calculó mediante la siguiente ecuación (Ec. 1):

$$\% PP = \frac{P_i - P_f}{P_i} * 100 \quad \text{Ec. 1}$$

Donde:

P_i: Peso inicial (g)

P_{uf}: Peso final en cada fecha de evaluación (g)

3.6. DETERMINACIÓN DE LA TASA RESPIRATORIA

Se colocaron por triplicado 100 ± 10 g de muestra en frascos herméticos de vidrio de 1 L de capacidad. Diariamente se cerraron los frascos durante 10 horas, al cabo de las cuales se midió la concentración gaseosa (porcentaje de O_2 y CO_2) en el interior de los mismos. A partir de dicho porcentaje, se calculó la generación de CO_2 mediante la ecuación 2.

$$RCO_2 = \frac{CO_{2f} - CO_{2i}}{m \cdot t} \cdot V_L \cdot \frac{p \cdot PM}{R \cdot T} \cdot 100 \quad \text{Ec. 2}$$

Donde:

RCO_2 : tasa respiratoria de producción de CO_2 ($mg\ CO_2 \cdot kg^{-1} \cdot h^{-1}$)

CO_{2f} : concentración final de CO_2 al final del ensayo (%)

CO_{2i} : concentración inicial de CO_2 al inicio del ensayo (%)

m: masa de fruta usada en el ensayo (g)

t: tiempo transcurrido entre las mediciones inicial y final de CO_2 (h)

V_L : volumen libre de la cámara de respiración (L)

p= presión atmosférica en Ambato a 2500 m.s.n.m. (0,73 atm)

R= constante universal de los gases ($0,0821\ atm\ L \cdot mol^{-1}\ K^{-1}$)

T= temperatura de almacenamiento (K)

PM= peso molecular del CO_2 (44,01 g/mol)

3.7. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

Para detectar la aparición de síntomas de desarrollo microbiano se controlaron diariamente los envases de forma visual. Además, los días 1, 3, 6 y 8 de almacenamiento se realizaron recuentos de microorganismos aerobios mesófilos siguiendo la norma INEN 1529-5 (INEN, 2006), psicrótrofos (ICMSF, 1982) y mohos y levaduras según la norma INEN 1529-10 (INEN, 2013), utilizando tres envases de cada tratamiento por día de evaluación.

Para los análisis, se colocaron 5 g de muestra y 45 ml de agua de peptona estéril en una bolsa Stomacher® y se homogeneizaron durante 2 minutos a 200 rpm (Stomacher 400, Seward, Inglaterra). Para todos los casos, se realizaron diluciones decimales y de cada dilución se sembró por duplicado, se tomó el promedio y el resultado se expresó como logaritmo (ufc g^{-1}).

Las placas para aerobios mesófilos y psicrotrofos se sembraron en profundidad y fueron incubadas durante 48 horas a 35 °C y durante 7 días a 10 °C, respectivamente. En el caso de mohos y levaduras la siembra fue en superficie y las placas se incubaron durante 5 días a 25 °C.

3.8. ANÁLISIS SENSORIAL

La calidad visual, el color, el aroma, la firmeza, la impresión global y el sabor característico de las moras fueron evaluados por un panel de 10 catadores (5 hombres y 5 mujeres). A cada evaluador se le presentaron tres muestras de cada tratamiento (moras con y sin recubrimiento), codificadas con números al azar de 3 dígitos. Para el color se utilizó la carta de color de la norma INEN 2427 (INEN, 2010).

Para el resto de los atributos se utilizó una escala de 1 a 7, en la que la mayor puntuación correspondió a la mejor calidad. La ficha de cata y las escalas correspondientes para la evaluación se muestran en el Anexo B.

3.9. DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado con dos tratamientos: un control sin recubrimiento y un recubrimiento con una película comestible a base de quitosano. Se realizaron dos cosechas y en cada una, los análisis se hicieron por triplicado.

3.10. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Los resultados se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) de un factor utilizando el programa IBM SPSS Statistics Versión 21.0. Cuando este análisis fue significativo se utilizó el test de Tukey ($\alpha = 0,05$) para la comparación de medias.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se encontraron diferencias significativas entre las dos cosechas para ninguno de los parámetros estudiados en la mora de Castilla, por lo que los valores fueron promediados.

4.1. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS

4.1.1 Pérdida de peso

En la figura 2 se muestran los porcentajes de pérdida de peso de las muestras control y con recubrimiento de quitosano en mora de Castilla, durante su almacenamiento a $6 \pm 1^\circ\text{C}$.

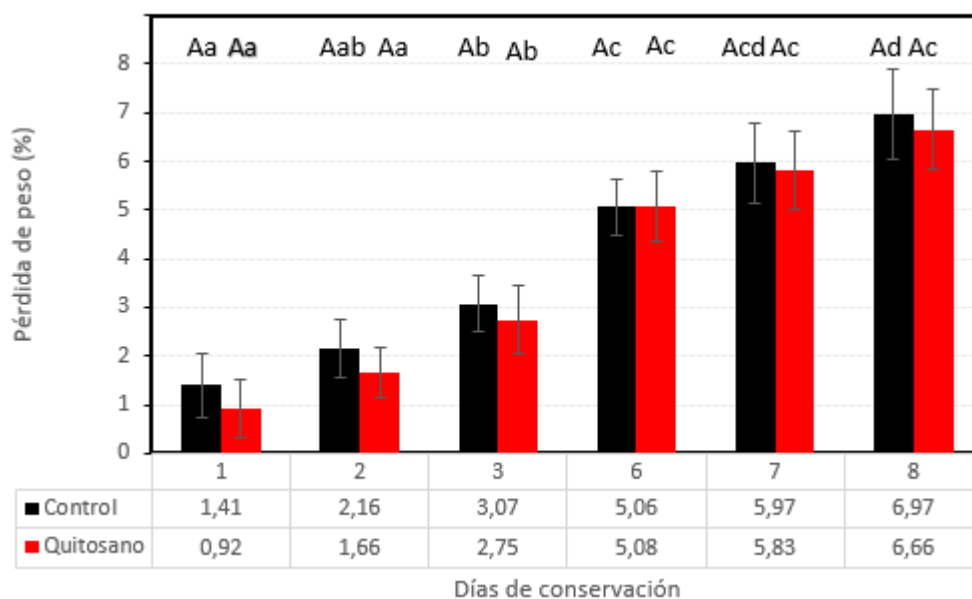


Figura 2. Pérdida de peso (%) de moras de Castilla cosechadas en estado de madurez 4 con y sin recubrimiento, almacenadas a $6 \pm 1^\circ\text{C}$.

Los resultados se expresan como la media \pm la desviación estándar de seis mediciones. Letras mayúsculas diferentes indican, para cada día, diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos. Letras minúsculas diferentes indican, para cada tratamiento, diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$) entre los días de evaluación.

Como se puede observar en la figura 2, los tratamientos presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$) durante los días de almacenamiento a $6 \pm 1^\circ\text{C}$. El aumento

en el porcentaje de pérdida de peso en moras de Castilla sin recubrimiento fue ligeramente mayor en relación a las que tuvieron recubrimiento durante los primeros días de almacenamiento, la diferencia fue menor en el séptimo y octavo día. Se registraron valores máximos de aproximadamente 7 % en la muestra control y de 6,66 % en la muestra con quitosano, después de 8 días de almacenamiento a 6 ± 1 °C.

En el estudio realizado por **Han, Zhao, Leonard, & Traber (2004)**, se observó que también el recubrimiento de quitosano redujo significativamente la pérdida de peso en fresas y frambuesas rojas almacenadas a 2 °C y 88 % HR en comparación con el control.

Los frutos durante el tiempo de almacenamiento se deshidratan y tienden a perder peso debido a los procesos de transpiración y respiración (**Guevara-Zambrano, 2016**). El quitosano tiene la habilidad de formar una capa semipermeable que otorga una mayor vida de almacenamiento a las frutas y hortalizas. Este polímero, retrasa la maduración de los productos y reduce la producción de O₂ y CO₂ (**Bautista-Baños, Hernández-Lauzardo, Velázquez del Valle, Bosquez-Molina, & Sánchez-Domínguez, 2005**). Tomando en cuenta que la pérdida de peso máxima admisible en frutas es del 5 % (**Arias Velásquez & Toledo Hevia, 2000**), en la figura 2 se observa que en la muestra control y en la muestra con quitosano al 1 %, se sobrepasó este límite el día 6, presentando pérdidas de peso del 5,06 % en el control y del 5,08 % en la fruta recubierta con quitosano.

4.2 ANÁLISIS DE LA TASA RESPIRATORIA

En la figura 3 se muestran las tasas respiratorias de las muestras con y sin recubrimiento almacenadas durante 8 días a 6 ± 1 °C.

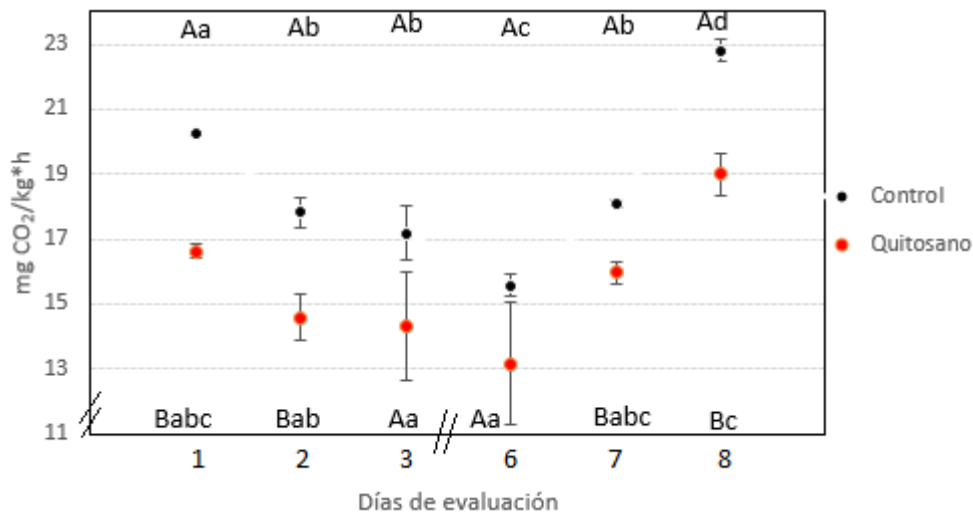


Figura 3. Tasa respiratoria de la mora de Castilla con y sin recubrimiento de quitosano 1% almacenadas a 6 ± 1 °C.

Los resultados se expresan como la media \pm la desviación estándar de tres mediciones. Letras mayúsculas diferentes indican, cada día, diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos. Letras minúsculas diferentes indican, para cada tratamiento, diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$) entre los días de evaluación.

Como se puede observar en la figura 3, los tratamientos presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$) durante los días de almacenamiento a 6 °C. La tasa respiratoria para la muestra con quitosano fue inferior con respecto al control, debido a que el quitosano puede actuar como una película semipermeable que retarda la maduración de las bayas. Además, este polímero puede modificar la atmósfera interna en el tejido del fruto, sin causar respiración anaeróbica (No, Meyers, Prinyawiwatkul, & Xu, 2007).

La producción de CO₂ en las muestras con y sin recubrimiento disminuyó en los días 1, 2, 3 y 6, efecto que puede estar relacionado a la baja temperatura de almacenamiento, lo que permite retardar la senescencia del producto e inhibir el crecimiento de hongos. Sin embargo, en los días 7 y 8 se produjo un aumento en la producción de CO₂.

Estos resultados fueron similares a los reportados por Hernández-Muñoz, Almenar, Valle, Velez & Gavara (2008), quienes realizaron un estudio de aplicación de quitosano (1,0 y 1,5 %) y quitosano con gluconato de calcio en fresas almacenadas a 10 °C y 70 ± 5 % HR, encontrando diferencias significativas entre las muestras control y las tratadas. La tasa respiratoria en fresas con recubrimiento mostró un mínimo en el

tercer día de almacenamiento y regresó a valores similares a los obtenidos en el primer día, asociando este cambio a las propiedades de barrera al gas y la permeabilidad del recubrimiento aplicado al fruto y su dependencia de la humedad relativa y temperatura que cambian los niveles endógenos de O₂ y CO₂. Además, estos autores reportaron un ligero aumento en la producción de CO₂ al final del periodo de almacenamiento de los frutos sin tratamiento, que podría estar asociado con el daño de los frutos y la descomposición por hongos.

Por otro lado, **El Ghaouth, Arul, Ponnampalam, & Boulet (1991)** estudiaron el efecto del recubrimiento de quitosano (1,0 y 1,5 % p/v) en fresas almacenadas a 4 °C, encontrando efectos inmediatos en la reducción de la tasa respiratoria en fresas con recubrimiento de quitosano, indicando que el efecto de disminución de la tasa respiratoria de las bayas tiene mayor efecto a mayor concentración del polímero.

4.3. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

En la tabla 1 se presentan los resultados de los recuentos de aerobios mesófilos, psicrótrofos y de mohos y levaduras de la mora de Castilla con y sin recubrimiento comestible almacenadas a 6 ± 1 °C.

Tabla 1. Recuentos microbiológicos de mora de Castilla con y sin recubrimiento comestible almacenadas a 6 ± 1 °C.

Días	Recuentos microbiológicos (log (ufc g ⁻¹))					
	Aerobios mesófilos		Psicrótrofos		Mohos y Levaduras	
	Control	Quitosano	Control	Quitosano	Control	Quitosano
1	2,31 ± 0,11Aa	2,07 ± 0,13Ba	1,87 ± 0,20Aa	2,11 ± 0,08Aa	3,19 ± 0,04Aa	2,78 ± 0,08Ba
3	2,46 ± 0,17Aa	1,92 ± 0,21Ba	3,65 ± 0,00Ab	3,13 ± 0,08Bb	3,30 ± 0,06Ab	2,80 ± 0,07Ba
6	2,55 ± 0,52Aab	2,15 ± 0,01Aa	3,77 ± 0,16Ab	1,58 ± 0,24Bc	6,25 ± 0,00Ac	2,73 ± 0,09Ba
8	3,10 ± 0,06Ab	2,11 ± 0,21Ba	4,97 ± 0,10Ac	5,09 ± 0,10Ad	6,13 ± 0,02Ad	4,12 ± 0,02Bb

Los resultados se expresan como la media ± la desviación estándar de seis mediciones.

Letras mayúsculas diferentes indican, para cada día, diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos. Letras minúsculas diferentes indican, para cada tratamiento, diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$) entre los días de evaluación.

Como se puede observar en la tabla 1, en la mora de Castilla sin recubrimiento se produjo un aumento significativo en los recuentos de los grupos microbianos estudiados durante el almacenamiento a 6 ± 1 °C en relación a las muestras con recubrimiento.

El recubrimiento de quitosano al 1 % presentó actividad antimicrobiana ante aerobios mesófilos en la muestra con recubrimiento comestible, en comparación con la muestra control. Los recuentos en los días 1 y 3 de la muestra con recubrimiento de quitosano (2,07 y 1,92 log ufc/g respectivamente) y el control (2,31 y 2,46 log ufc/g respectivamente), presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$). Sin embargo, según el análisis estadístico de datos ANOVA en el día 6 los recuentos no presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos. En el día 8, pese al crecimiento de microorganismos, el quitosano inhibió el crecimiento de aerobios mesófilos (2,11 log ufc/g) en comparación con la muestra control (3,10 log ufc/g). El recubrimiento de quitosano disminuyó los recuentos de bacterias aerobias mesófilas en 0,99 log ufc/g.

Se encontraron resultados similares a los reportados por **López-Mata et al. (2012)**, quienes reportaron diferencias significativas en el crecimiento de aerobios mesófilos de frutillas recubiertas con quitosano y aceites esenciales de canela y las frutas control. Además, estos autores reportaron que las frutas con quitosano prolongaron la vida de anaquel por 15 días a 5 °C sin afectar la calidad de la fruta.

Hubo diferencias significativas en los recuentos microbianos para psicrótrofos en cada tratamiento durante los días de almacenamiento a 6 °C. En este caso, el quitosano no presentó actividad antimicrobiana importante frente a este grupo microbiano. Sin embargo, los recuentos microbianos para mohos y levaduras presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos. En los días 1, 3, 6 y 8 hubo una reducción microbiana en la muestra con quitosano (2,78; 2,80; 2,73 y 4,12 log ufc/g respectivamente) en comparación con la muestra control (3,19; 3,30; 6,25 y 6,13 log ufc/g respectivamente). El quitosano al 1 % como recubrimiento comestible en moras de Castilla disminuyó los recuentos de mohos y levaduras en 2,01 log ufc/g, siendo los principales microorganismos que ocasionan pudrición y pérdida de calidad de frutas.

En la muestra control el crecimiento de mohos y levaduras se produjo rápidamente, provocando la pudrición de las moras, la pérdida de líquido y la presencia de aromas anómalos, característicos de la fermentación. El recubrimiento de quitosano redujo el crecimiento de mohos y levaduras evitando la pudrición, coincidiendo con lo reportado por **Zhang & Quantick (1998)** y **El Ghaouth et al. (1991)**, quienes determinaron que el quitosano retarda el crecimiento de mohos en fresas y frambuesas almacenadas a 13 °C.

El quitosano inhibió el crecimiento microbiano con mayor efectividad en el caso de los mohos y levaduras. Este polímero presenta la capacidad de inhibir el crecimiento de varios hongos, ya que tiene la habilidad de inducir quitinasa y β -1,3-glucanasa, provocando fitoalexinas en los tejidos del huésped, lo cual promueve mecanismos de defensa ante el crecimiento microbiano (**Zhang & Quantick, 1998**).

4.4. ANÁLISIS SENSORIALES

En la figura 4, los atributos de color (a), aroma (b) y sabor (c) de la mora de Castilla presentaron diferencias significativas ($p < 0,005$) entre tratamientos.

Los atributos de calidad de las frutas independientemente del tratamiento disminuyeron significativamente durante los días de almacenamiento.

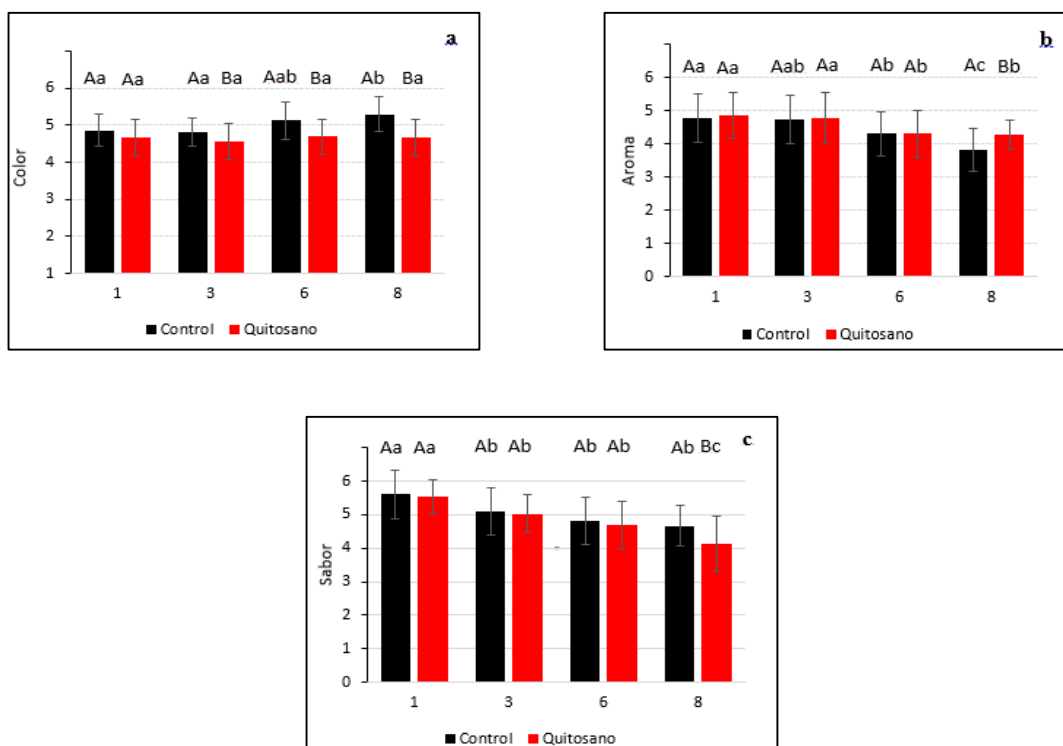


Figura 4. Color (a), aroma (b) y sabor (c) de moras de Castilla con y sin recubrimiento conservadas a 6 ± 1 °C.

Los resultados se expresan como la media \pm la desviación estándar de seis mediciones.

Letras mayúsculas diferentes indican, para cada día, diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos. Letras minúsculas diferentes indican, para cada tratamiento, diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$) entre los días de evaluación.

Como se puede observar en la figura 4a, la mora de Castilla sin recubrimiento (control) cambió su coloración durante los días de evaluación. De acuerdo a la carta de color empleada, esta fruta inicialmente presentó un estado de madurez 4 y al cabo de 8 días a 6 ± 1 °C de almacenamiento presentó un cambio en su coloración (estado de madurez 5). El cambio de color rojo a un rojo negruzco se relacionó principalmente a la maduración del fruto como resultado de la aparición de pigmentos, carotenoides y antocianinas por la desintegración de la clorofila (Farinango, 2010).

El recubrimiento de quitosano al 1 % mantuvo mejor la coloración de las moras de Castilla conservando el estado de madurez inicial (4) de la fruta (Figura 4a).



Figura 5. Color de las moras de Castilla en el día 6, muestra control (a) y muestra con recubrimiento (b) almacenadas a 6 ± 1 °C.

El recubrimiento de quitosano permitió conservar los atributos de calidad de la mora de Castilla, principalmente el color que mejora el aspecto visual de la fruta, siendo éste uno de los principales criterios que el consumidor privilegia al momento de elegir el producto para el consumo (**McGuire, 1992**).

En cuanto a los atributos de aroma y sabor de la muestra control y la muestra con quitosano, se presentaron diferencias significativas en el octavo día de almacenamiento. La mora por ser una fruta no climatérica produce compuestos orgánicos volátiles en menor cantidad durante su maduración lo que hace que su aroma sea muy ligero en comparación con frutas climatéricas (**Farinango, 2010**).

Como se puede observar, los atributos organolépticos estudiados en las frutas con recubrimiento comestible conservaron los niveles de aceptación para los catadores. Sin embargo, el primer día de evaluación los catadores percibieron sabores amargos en las frutas, los cuales desaparecieron rápidamente y no se apreciaron en los días posteriores, coincidiendo con **Devlieghere, Vermeulen, & Debevere (2004)**, quienes estudiaron el recubrimiento de fresas con soluciones de quitosano y obtuvieron efectos benéficos a partir del cuarto día de almacenamiento. En el estudio reportaron que no hubo diferencias significativas en el sabor entre la muestra control y la muestra con quitosano. Sin embargo, al igual que en el presente estudio, dichos autores describen que el primer día los catadores describieron un ligero sabor amargo que desapareció rápidamente en los siguientes días de evaluación.

El sabor amargo y astringente en los alimentos se atribuye al pH y a la cantidad de grupos amino presentes en la cadena del quitosano, ya que las soluciones iniciales del quitosano alcanzan un $\text{pH} < 5,5$ provocando sabores astringentes que desaparecen a medida que el pH aumenta (**Han et al., 2005; Lárez, 2008**).

4.5. VERIFICACIÓN DE LA HIPÓTESIS

De acuerdo a los resultados obtenidos se acepta la hipótesis alternativa indicando que el recubrimiento de quitosano sí influyó sobre la calidad sensorial y microbiológica de la mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth).

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

El quitosano como recubrimiento comestible presentó efectos beneficiosos en la inhibición de microorganismos durante la conservación postcosecha de la mora de Castilla. Adicionalmente, la calidad sensorial de la misma no se vio afectada por la aplicación de este recubrimiento, haciendo la fruta aceptable para el consumidor.

El quitosano como recubrimiento comestible formó una película semipermeable en la fruta que permitió reducir la tasa respiratoria, conservar la calidad de la fruta y prolongar la vida útil de la mora de Castilla hasta 8 días a 6 °C.

La calidad sensorial de las moras de Castilla con recubrimiento fue aceptable para los catadores, ya que el recubrimiento proporcionó un aspecto brillante en la mora conservando su color inicial (estado de maduración 4). Asimismo, este recubrimiento preservó el sabor y el aroma de la fruta, mientras que la calidad visual, la textura y la impresión global fueron similares al control, con lo que se obtuvo una adecuada aceptabilidad de las muestras con recubrimiento.

El recubrimiento comestible a base de quitosano inhibió el crecimiento de microorganismos aerobios mesófilos y mohos y levaduras en comparación con la muestra control. El almacenamiento refrigerado y el uso de recubrimientos permitieron disminuir la pérdida de peso, el ablandamiento y el crecimiento microbiano de las moras de Castilla.

5.2 RECOMENDACIONES

Realizar más estudios de aplicación del quitosano como recubrimiento comestible en moras de Castilla, debido a la limitación de la información disponible.

Investigar si diferentes concentraciones de quitosano inhiben el crecimiento de microorganismos psicrótrofos en frutas.

Implementar en la norma INEN los recuentos máximos permisibles de carga microbiana de moras de Castilla.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aider, M. (2010). Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: Review. *LWT-Food Science and Technology*, 43(6), 837-842.
- Arias Velásquez, C. J., & Toledo Hevia, J. (2000). Manual de manejo postcosecha de frutas tropicales (Papaya, piña, plátano, cítricos). *Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación (FAO), Proyecto TCP/PER/6713 (a) "Técnicas mejoradas de postcosecha, procesamiento y comercialización de frutas"*.
- Ayala-Valencia, G. (2015). Efecto antimicrobiano del quitosano: una revisión de la literatura. *Scientia Agroalimentaria*, 2, 32-38.
- Bautista-Baños, S., Hernández-Lauzardo, A. N., Velázquez del Valle, M. G., Bosquez-Molina, E., & Sánchez-Domínguez, D. (2005). Quitosano: Una alternativa natural para reducir microorganismos postcosecha y mantener la vida de anaquel de productos hortofrutícolas. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 7(1), 1-6.
- Chanaguano, D. C. (2016). Estudio de la calidad y comportamiento postcosecha de dos variedades de mora (*Rubus glaucus* Benth) cosechadas en los estados de madurez 3 y 5. (Tesis de grado), Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Universidad Técnica de Ambato, Tungurahua - Ecuador. (79 pág).
- Dayron , Á., Fischer, G., & Flórez, R. (2006). Almacenamiento refrigerado de frutos de mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth.) en empaques con atmósfera modificada. *Agronomía Colombiana*, 24, 306-316.
- Devlieghere, F., Vermeulen, A., & Debevere, J. (2004). Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. *Food Microbiology*, 21(6), 703-714. doi: <http://doi.org/10.1016/j.fm.2004.02.008>.
- El Ghaouth, A., Arul, J., Ponnampalam, R., & Boulet, M. (1991). Chitosan Coating Effect on Storability and Quality of Fresh Strawberries. *Journal of Food Science*, 56(6), 1618-1620.

- Escobar, D., Castro, A., & Vergara, N. (2013). Determining the Relation between the Proportion of the Amino Group and the Degree of Deacetylation of Chitosan. *Revista de Ciencias, 18*(1), 73-88.
- Farinango, M. (2010). Estudio de la fisiología postcosecha de la mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth) y de la mora variedad Brazos (*Rubus* sp.). (Tesis de grado), Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria, Quito-Ecuador. (167 pág).
- Fernandez-Valdés, D., Bautista-Baños, S., Fernandez-Valdés, D., Ocampo-Ramírez, A., García-Pereira, A., & Falcón-Rodríguez, A. (2015). Películas y recubrimientos comestibles: una alternativa favorable en la conservación poscosecha de frutas y hortalizas. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias, 24*, 52-57.
- Figueroa, J., Salcedo, J., Aguas, Y., Olivero, R., & Narváez, G. (2011). Recubrimientos Comestibles en la Conservación del Mango y Aguacate, y Perspectiva, al uso del Propóleo en su Formulacion. *Revista Colombiana de Ciencia Animal, 3*(2), 386-400.
- Guevara-Zambrano, J. M. (2016). Evaluación del efecto antifúngico de quitosano para el control de podredumbres en moras de Castilla (*Rubus glaucus*) durante el período poscosecha. (Tesis de grado), Facultad de ingeniería química y agroindustria, Escuela Politécnica Nacional, Quito-Ecuador. (144 pág).
- Han, C., Lederer, C., McDaniel, M., & Zhao, Y. (2005). Sensory Evaluation of Fresh Strawberries (*Forager ananassa*) Coated with Chits-based Edible Coatings. *Journal of Food Science, 70*(3), 172-178.
- Han, C., Zhao, Y., Leonard, S., & Traber, M. (2004). Edible coatings to improve storability and enhance nutritional value of fresh and frozen strawberries (*Fragaria × ananassa*) and raspberries (*Rubus ideaus*). *Postharvest Biology and Technology, 33*(1), 67-78.
- Hernández-Lauzardo, A. N., Hernández-Martínez, M., Velázquez-del Valle, M. G., Guerra-Sánchez, M. G., & Melo-Giorgana, G. E. (2007). Actividad Antifúngica del Quitosano en el Control de *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.:Fr.) Vuill. y *Mucor* spp. *Revista mexicana de fitopatología, 25*, 109-113.
- Hernandez-Muñoz, P., Almenar, E., Valle, V. D., Velez, D., & Gavara, R. (2008). Effect of chitosan coating combined with postharvest calcium treatment on

- strawberry (*Fragaria x ananassa*) quality during refrigerated storage. *Food Chem*, 110(2), 428-435. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.02.020.
- Huang, W.-y., Zhang, H.-c., Liu, W.-x., & Li, C.-y. (2012). Survey of antioxidant capacity and phenolic composition of blueberry, blackberry, and strawberry in Nanjing. *Journal of Zhejiang University SCIENCE B (Biomedicine & Biotechnology)*, 13(2), 94-102.
- ICMSF. (1982). Microorganismos de los alimentos. Su significado y métodos de enumeración. Volumen 1, Editorial acribia, Zaragoza.
- INEC-MAG-SICA. (2013). (Instituto Nacional de Estadísticas y Censos, Ministerio de Agricultura y Ganadería., Sistema Integral de Control Agroalimentario). "III Censo Agropecuario. <http://www.ecuadorencifras.gob.ec/censo-nacional-agropecuario/>. Consultado el 17 de Julio del 2015.
- INEN. (2013). Instituto Ecuatoriano de Normalización. INEN-ISO 1842. Productos vegetales y de frutas. Determinación de pH (IDT).
- INEN. (2006). Control microbiológico de los alimentos. Determinación de la cantidad de microorganismos aerobios mesófilos.
- INEN. (2010). Instituto Ecuatoriano de Normalización. INEN 2427. Frutas frescas. Mora. Requisitos.
- Iza, F., Rojas-Lema, X., & Arguello, Y. (2016). Línea base de la calidad de la mora de Castilla (*Rubus glaucus*). *Enfoque UTE*, 7(3), 82-94.
- Kong, M., Chen, X., Xing, K., & Park, H. J. (2010). Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review. *International Journal of Food Microbiology*, 144(1), 51-63.
- Lárez, C. (2008). Algunas potencialidades de la quitina y el quitosano para usos relacionados con la agricultura en Latinoamérica. *Revista UDO Agrícola*, 8(1), 1-22.
- López-Mata, M. A., Ruiz-Cruz, S., Navarro-Preciado, C., Ornelas-Paz, J. d. J., Estrada-Alvarado, M. I., Gassos-Ortega, L. E., & Rodrigo-García, J. (2012). Effect of Chitosan Edible Coatings in the Microbial Reduction and Conservation of the Quality of Strawberries. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud (Biotecnia)*, XIV(1), 33-43.

- Luna, Y. (2012). Obtención de quitosano a partir de quitina para su empleo en conservación de frutillas y moras. (Tesis de grado), Facultad de Ingeniería Química, Universidad Central del Ecuador, Quito-Ecuador. (151 pág).
- Martínez, A., Beltrán, O., Velastegui, G., Ayala, G., Jácome, R., Yáñez, W., & Valle, E. (2007). Manual del cultivo de la mora de Castilla. Ambato - Ecuador: Convenio INIAP-UTA.
- McGuire, R. (1992). Reporting of objective color measurements. *HortScience*, 27(12), 1254-1255.
- Moreno-Guerrero, C., Andrade-Cuvi, M. J., Terán-Guerrero, A., Túqueres-Ushca, A., & Concellón, A. (2016). Efecto del uso combinado de radiación uv-c y atmósfera modificada sobre el tiempo de vida útil de mora de Castilla (*Rubus glaucus*) sin espinas. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 1(1), 71-78.
- Moreno-Medina, B., Casierra-Posada, F., & Blanke, M. (2016). Índices de crecimiento en plantas de mora. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 10(1), 28-39.
- No, H. K., Meyers, S. P., Prinyawiwatkul, W., & Xu, Z. (2007). Applications of chitosan for improvement of quality and shelf life of foods: A review. *J Food Sci*, 72(5), R87-R100. doi: 10.1111/j.1750-3841.2007.00383.
- Quintero, C. J., Falguera, V., & Muñoz, H. A. (2010). Películas y recubrimientos comestibles: importancia y tendencias recientes en la cadena hortofrutícola. *Revista Tumbaga*, 5(1), 93-118.
- Ramírez, J. (2012). Conservación de mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth) mediante la aplicación de un recubrimiento comestible de gel de mucílago de penca de sábila (*Aloe barbadensis* Miller). (Tesis de grado), Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia, Medellín-Colombia. (112 pág).
- Ramírez, J., Aristizabal, I., & Restrepo, J. (2013). Conservación de la mora de Castilla mediante la aplicación de un recubrimiento comestible de gel de mucílago de penca de sábila. *Vitae*, 20(3), 172-183.
- Rojas-Llanes, J. P., Martínez, J. R., & Stashenko, E. E. (2014). Contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de extractos de mora (*Rubus glaucus* Benth) obtenidos bajo diferentes condiciones. *Vitae*, 21(3), 218-227.

- Romanazzi, G., Nigro, F., Ippolito, A., Di Venere, D., & Salerno, M. (2002). Effects of pre- and postharvest chitosan treatments to control storage grey mold of table grapes. *J Food Sci*, 67(5), 1862-1867.
- Rueda, A. D., Alulema, A., Romero, P., Rueda, B., & Jaffer, G. M. (2016). Obtaining protoplasts from leaf tissue plantlets of *Rubus glaucus* Benth (Blackberry) to develop proembryos. *Indian Journal of Science and Technology*, 9(10), 1-8. doi: 10.17485/ijst/2016/v9i10/8198.
- Valenzuela, C., & Arias, J. (2012). Potenciales aplicaciones de películas de quitosano en alimentos de origen animal. Una revisión. *Avances en Ciencias Veterinarias*, 27(1), 33-47.
- Villacrez, J., Carriazo, J., & Osorio, C. (2013). Microencapsulation of Andes Berry (*Rubus glaucus* Benth.) Aqueous Extract by Spray Drying. *Food Bioprocess Technol*, 7(5), 1445-1456.
- Zhang, D., & Quantick, P. C. (1998). Antifungal effects of chitosan coating on fresh strawberries and raspberries during storage. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 73(6), 763-767.

ANEXOS

ANEXO A

Aplicación del recubrimiento comestible



Figura 6. Recepción y clasificación de la mora de Castilla (estado de madurez 4)



Figura 7. Aplicación de recubrimiento de quitosano y secado de la fruta



Figura 8. Envasado y almacenamiento de las muestras a 6 ± 1 °C

ANEXO B
MÉTODO EMPLEADO PARA EL ANÁLISIS SENSORIAL

ANEXO B-1

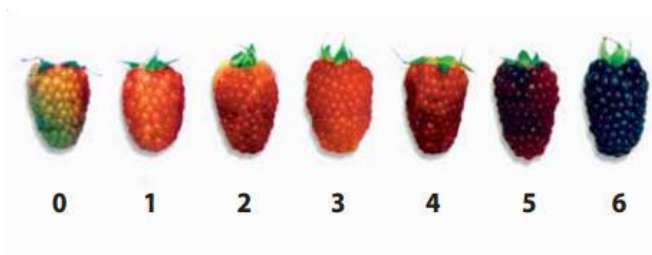
HOJA DE CATACIÓN

ESCALA PARA EL ANÁLISIS SENSORIAL DE MORAS SIN Y CON RECUBRIMIENTO

Calidad Visual: entre paréntesis se indica el % de la superficie afectada del fruto.

1. Muy malo (> 51 %)
2. Malo (41 -50 %)
3. Regular (21 – 40 %)
4. Aceptable (11 – 20 %)
5. Bueno (6 – 10 %)
6. Muy bueno (hasta 5 %)
7. Excelente

Color: clasificar las moras de acuerdo a la carta de color entregada.



Aroma característico: en caso de notar algún aroma anómalo, por favor describirlo.

1. Nada
2. Muy ligero
3. Ligero
4. Moderado
5. Intenso
6. Bastante intenso
7. Muy intenso

Firmeza: Grado de deformación a la presión ejercida con los dedos índice y pulgar.

1. Muy blando
2. Bastante blando
3. Blando
4. Moderadamente firme
5. Firme
6. Bastante firme
7. Muy firme

Impresión global

1. Muy malo
2. Malo
3. Regular
4. Aceptable
5. Bueno
6. Muy bueno
7. Excelente

Sabor característico

1. Ausencia total
2. Muy débil
3. Débil
4. Moderado
5. Intenso
6. Bastante intenso
7. Muy intenso

ANEXO B-2
ANÁLISIS SENSORIAL: HOJA DE RESPUESTAS

Nombre:

Fecha:

Nº Muestra	Calidad visual	Color	Aroma característico	Firmeza	Impresión global	Sabor característico
220						
230						
240						
250						
280						
300						

Observaciones:

.....
.....

GRACIAS POR SU COLABORACIÓN



Figura 9. Evaluación sensorial de las moras de Castilla con y sin recubrimiento

ANEXO C
Análisis microbiológicos



Figura 10. Presencia de crecimiento microbiano en la muestra control.



Figura 11. Inoculación de las muestras.